

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

THÈSE

N^o 313

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 15 juillet 1897, à 1 heure

PAR

HENRI POTTEVIN

CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE DE LA FERMENTATION LACTIQUE

Président : M. RICHET

Juges : MM. { POLAILLON
REMY
BRUN

SCEAUX

IMPRIMERIE E. CHARAIRE

68 ET 70, RUE HOUDAN, 68 ET 70

1897

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

THÈSE

513

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 15 juillet 1897, à 1 heure

PAR

HENRI POTTEVIN

CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE DE LA FERMENTATION LACTIQUE

Président : M. RICHET

Juges : MM. { POLAILLON
REMY
BRUN

SCEAUX

IMPRIMERIE E. CHARAIRE

68 ET 70, RUE HOUDAN, 68 ET 70

1897

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen	M. BROUARDEL.
Professeurs	MM.
Anatomie.....	FARABEUF.
Physiologie.....	CH. RICHEL.
Physique médicale.....	GARIEL.
Histoire naturelle médicale.....	N.
Chimie organique et chimie minérale.....	GAUTHIER.
Pathologie et thérapeutique générales.....	BOUCHARD.
Pathologie médicale.....	HUTINEL.
Pathologie chirurgicale.....	DEBOVE.
Anatomie pathologique.....	LANNELONGUE.
Histologie.....	CORNIL.
Opérations et appareils.....	MATHIAS DUVAL.
Pharmacologie.....	TERRIER.
Thérapeutique et matière médicale.....	POUCHET.
Hygiène.....	LANDOUZY.
Médecine légale.....	PROUST.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	BROUARDEL.
Pathologie expérimentale et comparée.....	LABOULBENE.
	CHANTEMESSE.
Clinique médicale.....	DIEULAFOY.
	POTAIN.
	JACCOUD.
	HAYEM.
	GRANCHER.
Maladie des enfants.....	JOFFROY.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale.....	FOURNIER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	RAYMOND.
Clinique des maladies du système nerveux.....	DUPLAY.
Clinique chirurgicale.....	LE DENTU.
	TILLAUX.
	BERGER.
Clinique des maladies des voies urinaires.....	GUYON.
Clinique ophthalmologique.....	PANAS.
Cliniques d'accouchement.....	TARNIER.
	PINARD.

Professeur honoraire :

M. N.

Agrégés en exercice :

MM	MM.	MM.	MM.
ACHARD.	GILBERT.	NELATON.	THOINOT.
ALBARRAN.	GILLE DE LA TOURETTE.	NETTER.	TUFFIER.
ANDRÉ.	GLEY.	POIRIER, chef des travaux anatomiques.	VARNIER.
BAR.	HARTMANN.	RETTERER.	WALTHER.
BONNAIRE.	HEIM.	REMY.	WEISS.
BROCA.	LEJARS.	RICARD.	WIDAL.
CHARRIN.	LETULLE.	ROGER.	WURTZ.
CHASSEVANT.	MARFAN.	SEBILEAU.	
DELBET.	MARIE.	THIÉRY.	
GAUCHER.	MENETRIER.		

Secrétaire de la Faculté : M. Ch. PUPIN.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552026_0019

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA FERMENTATION LACTIQUE

PAR HENRI POTTEVIN

(Travail fait au Laboratoire de Chimie Biologique à l'Institut Pasteur.)

INTRODUCTION

L'acide lactique est un des produits qui se rencontrent le plus fréquemment parmi les sécrétions des cellules vivantes.

Il existe dans le suc gastrique, dans la chair musculaire et on le trouve comme résidu de la destruction des hydrates de carbone par un grand nombre de ferments.

Une partie de l'acide lactique du sang provient certainement des fermentations du canal digestif : M. Richet a démontré qu'il n'entre que pour une très faible portion dans l'acide du suc gastrique, mais dans l'intestin pullule le *B. coli* qui en produit activement ; l'autre partie naît de l'activité même des muscles, elle augmente pendant le travail.

On n'est pas d'accord sur l'origine de l'acide lactique des muscles. Pour les uns¹, il est formé uniquement aux dépens du glycogène ; pour les autres², il dérive en grande partie de la matière albuminoïde ; quoi qu'il en soit, il ne constitue qu'un terme transitoire dans la dégradation alimentaire, destiné non à être éliminé mais à être ultérieurement détruit ; on ne l'a en effet jamais signalé dans l'urine normale. Minkowski³ pense que cette destruction doit se faire sinon dans le foie, tout au moins sous l'influence de cet organe ; il appuie son opinion sur ce fait que l'acide lactique apparaît en abondance dans l'urine des oies après ablation du foie et aussi sur ce que les cas pathologiques, où il a été signalé dans l'urine de l'homme, se rapportent à des lésions

1. O. NASSE, *Zur. anat. und Physiol. der Muskelsubstanz* (Leipzig, 1882).

2. HOPPE SEYLER, *Physiol. Chem.*

3. NINKOWSKI, *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.* 1886.

hépatiques — atrophie aiguë du foie. — Empoisonnement par le phosphore.

Un grand nombre de microbes produisent de l'acide lactique aux dépens des sucres ; mais de même que nous réservons le nom de ferments alcooliques aux êtres qui dédoublent le sucre en alcool et acide carbonique de façon que la somme des deux produits représente à quelques centièmes près le poids du sucre détruit, de même nous appellerons ferments lactiques ceux qui transforment intégralement le sucre en acide lactique à quelques centièmes près. Ces ferments, dont le premier a été décrit par Pasteur, ont été étudiés par Lister, par Richet, par Kayser : leur histoire est trop connue pour qu'il soit nécessaire de la rappeler ici. Les autres êtres qui donnent aussi de l'acide lactique en fournissent des quantités variables dont le poids ne correspond le plus souvent qu'à une très faible partie de celui du sucre consommé.

On connaît aujourd'hui quatre acides lactiques ayant pour formule $C^3H^6O^3$.

Le plus anciennement connu, l'acide ordinaire, acide de fermentation, découvert vers 1780 par Scheele dans le lait aigri, est un racémate inactif sur la lumière polarisée. MM. Purdie et Walker l'ont dédoublé en ses deux composants droit et gauche.

L'acide droit, acide paralactique, est identique à l'acide sarcolactique qui constitue la majeure partie de l'acide des muscles.

L'acide gauche a été obtenu pour la première fois par Nencki et Sieber en faisant fermenter la lévulose sous l'influence d'un micrococcus découvert par eux.

Les deux acides droit et gauche contiennent dans leur molécule le radical éthylidène, leur constitution est représentée par la formule $CH^3 - CHOH - CO^2H$.

Le quatrième acide lactique, acide éthylénolactique $CH^2OH - CH^3 - CO^2H$, est inactif sur la lumière polarisée : il existe uni en très faibles proportions à l'acide paralactique dans le suc musculaire, il n'a été que très rarement signalé comme produit de fermentations.

D'une façon générale on peut dire que les ferments lactiques produisent de l'acide inactif ; les autres microbes des acides actifs droit ou gauche.

Nencki avait pensé qu'un même microbe fournissait toujours

le même acide et que cette propriété pouvait servir à le caractériser d'une façon certaine; nous savons aujourd'hui qu'il n'en est rien. M. Péré a montré que telle espèce de *B. coli* qui, cultivée sur glucose, donne de l'acide droit, fournit de l'acide inactif quand elle agit sur la lévulose; elle est pourtant capable de donner, même avec la lévulose, de l'acide droit, il suffit pour cela qu'on lui rende la vie pénible en remplaçant, dans le milieu de culture, la peptone par un sel ammoniacal; dans ce cas, le microbe paraît vivre sur le racémate en attaquant de préférence l'acide gauche.

M. Péré a montré qu'il en est réellement ainsi en faisant agir le *B. coli* sur le lactate de chaux : celui-ci est facilement attaqué, mais tandis que dans les solutions de peptone les deux isomères disparaissent avec une vitesse égale, en sorte que le résidu est toujours de l'acide inactif dans celles où la peptone est remplacée par un mélange de phosphate et de sulfate d'ammoniaque l'acide gauche est détruit le premier et la différence est d'autant plus accusée que la proportion des sels ammoniacaux présents dans la culture est plus réduite.

Nous sommes donc amenés à considérer que les ferments producteurs d'acide lactique commencent tous par donner aux dépens du sucre de l'acide inactif, les uns capables de détruire cet acide brûlent avec des vitesses variables selon les conditions de la culture chacun des deux isomères et aboutissent ainsi à des résidus actifs; les autres, les ferments lactiques, hors d'état de consommer l'acide lactique laissent intact celui qu'ils ont une fois formé. Tout ce que nous savons sur les caractères généraux, communs aux microbes qui composent chacune des espèces artificiellement définies ainsi, confirme cette manière de voir. Les ferments lactiques ensemencés dans une solution de peptone additionnée de lactate de chaux restent sans action appréciable sur le sel : ils sont fragiles, perdent facilement leur pouvoir ferment. M. Richet a montré qu'ils étaient très difficiles au point de vue de l'azote alimentaire, ils se refusent à vivre dans les milieux privés de matière albuminoïde en solution. Les autres ferments sont au contraire des agents de combustion énergiques, peu difficiles sur les conditions de la culture, s'accommodant bien des milieux à azote ammoniacal; il semble que les ferments lactiques dérivent d'eux par atténuation.

Dans les travaux que j'ai eu l'occasion de citer précédemment,

M. Péré s'était proposé de rechercher s'il existe des relations de structure moléculaire entre un acide lactique et le sucre dont il dérive. De pareilles relations, si nous en connaissons, en nous montrant quels sont les groupements atomiques de la molécule sucrée qui se retrouvent dans la molécule acide, nous permettraient de fixer sur quel point de la première s'est portée l'action du ferment et à quel acte chimique précis cette action peut être ramenée. Le mécanisme de la fermentation lactique serait éclairci, et ce que j'ai dit de son ubiquité indique quel serait l'intérêt physiologique d'une semblable trouvaille. D'ailleurs, à mesure que nous pénétrons plus avant le chimisme des cellules vivantes, nous nous apercevons davantage que partout entrent en jeu les mêmes forces soumises aux mêmes lois, et que le bénéfice de toute notion nouvelle s'étend bien au delà du cas particulier à l'occasion duquel elle a été acquise. Dans l'ordre d'idées qui nous occupe, M. Duclaux a introduit dans la science des faits singulièrement suggestifs : nous savons par ses travaux quelle parenté étroite existe entre les phénomènes de décomposition des sucres sous l'influence des ferments et sous l'action de la lumière solaire. Exposé au soleil en solution alcalinisée par l'eau de chaux, le glucose est détruit avec production d'alcool et d'acide carbonique, si on se sert pour alcaliniser la solution sucrée d'hydrate de baryte au lieu de chaux, on obtient de l'acide lactique ; dans ces conditions le maltose a donné de l'acide droit, le levulose de l'acide gauche, le sucre interverti de l'acide inactif par compensation. Nous voyons que le groupement atomique qui dans la molécule de sucre commande par sa position, d'après nos idées actuelles, le sens du pouvoir rotatoire se conserve dans la molécule d'acide. Malheureusement les faits recueillis jusqu'ici ne semblent pas indiquer qu'il en soit de même dans les fermentations ; M. Péré nous a appris qu'un même sucre lévogyre pouvait donner naissance indistinctement à de l'acide droit ou à de l'acide gauche, suivant que l'azote introduit dans le milieu de culture est à l'état de peptone ou d'ammoniaque. Malgré ces résultats peu encourageants j'ai pensé que la question valait la peine d'être reprise sur nouveaux frais. Il est à remarquer que toutes les expériences faites jusqu'ici dans cette voie l'ont été avec des ferments produisant peu d'acide lactique ; dans l'exposé

que nous venons de faire nous avons été amenés à considérer cet acide comme le résidu d'une double opération, donnant d'abord aux dépens du sucre une forte proportion d'acide, puis détruisant partiellement l'acide ainsi formé; il ne faut pas trop nous étonner que le résultat de la seconde intervention ne présente pas avec le sucre initial des relations étroites, si de pareilles relations existent, il semble naturel de les chercher en s'adressant à des ferments lactiques vrais qui nous laissent l'acide tel qu'ils l'ont une fois produit aux dépens du sucre : c'est le but que je me suis proposé dans le présent travail.

I

FERMENTATION DES SUCRES

Pour me procurer un ferment lactique j'ai abandonné à l'étuve, sans stérilisation préalable, du jus d'oignons additionné de 10 0/0 de glucose; ce jus se peuple rapidement d'une infinité de microbes parmi lesquels les ferments lactiques dominent, ceux-ci ont été isolés par la méthode des dilutions en liquide.

Le ferment qui fait l'objet de cette étude est un bâtonnet immobile; dans les cultures il se présente isolé ou réuni en chaînettes d'une dizaine d'articles au plus. A la température de 35° dans le lait qu'il coagule en 24 heures environ, dans l'eau de touraillons sucrée, son milieu d'élection est le jus d'oignons additionné de 0,5 0/0 de peptone. Il ne pousse que très péniblement sur les mêmes milieux solidifiés par la gélatine ou la gélose.

A la température de 23° la culture est plus lente qu'à 35°, mais se fait encore, à 40° elle est très pénible. au-dessus il n'y a pas de développement.

Dans l'eau peptonisée à plus de 2 gr. par litre, le ferment se développe bien : il envahit toute la masse du liquide qui devient d'abord légèrement acide, puis à la longue très légèrement alcalin : l'acide volatil qui prend naissance a été étudié par la méthode des distillations fractionnées; c'est de l'acide acétique pur, dans un liquide à 2 0/0 de peptone, il ne s'en trouve jamais plus de 0,2 par litre. L'extraction à l'éther en présence d'un excès d'acide sulfurique ne m'a jamais permis de constater la production d'acide lactique.

Action sur les sucres. — Les cultures ont été faites à 35° dans l'eau peptonisée en présence d'un excès de carbonate de chaux.

Pour la recherche des acides fixes, le liquide de culture concentré à consistance de sirop était additionné d'une quantité d'acide sulfurique juste suffisante pour précipiter la chaux et épuisé par l'éther.

Le meilleur procédé pour caractériser et différencier les acides lactiques est l'étude de leurs sels de zinc : ces sels très solubles dans l'eau chaude, peu solubles dans l'eau froide, sont faciles à obtenir purs cristallisés en belles aiguilles.

Le sel de l'acide *inactif* cristallise avec 3 molécules d'eau $O^6H^{10}C^6Zn + 3H^2O$. Les sels actifs cristallisent avec deux molécules seulement. $C^6H^{10}O^6Zn + 2H^2O$. — Tous ces sels perdent leur eau de cristallisation par un chauffage de 1 heure à 160°. La perte d'eau correspond à 18,1 0/0 pour le sel inactif, à 12,9 0/0 pour les sels actifs.

Le sel de zinc de l'acide droit dévie à gauche, celui de l'acide gauche dévie à droite.

Le pouvoir rotatoire du lactate lévogyre varie avec la concentration de la solution observée, il diminue quand la concentration augmente; il est de $-8^{\circ} 5$ d'après Wislicenus pour les solutions contenant de 4 à 5 0/0 de sel.

Pour la recherche des acides volatils j'ai eu recours à la méthode de distillation fractionnée de M. Duclaux.

Lorsque, la nature des acides étant connue, il s'est agi simplement d'en suivre les variations quantitatives au cours d'une fermentation, je me suis contenté de doser la chaux dissoute et les acides volatils, j'ai calculé l'acide lactique par différence.

Pour le dosage de la chaux en solution le procédé suivant est très rapide et donne des résultats exacts.

50 c.c. du liquide à essayer sont disposés dans un vase de Bohême au-dessus d'un bec Bunsen, additionnés de quelques gouttes d'une solution de phénol-phtaléine et portés à l'ébullition; dans le liquide bouillant on verse goutte à goutte, en agitant constamment, une solution titrée de carbonate de potasse, il se forme du carbonate de chaux qui se précipite et un sel neutre de potasse qui reste en solution; quand toute la chaux a été précipitée, l'addition d'une nouvelle quantité de CO^3K^6 rend le liquide alcalin. De la quantité de carbonate employée on déduit la quantité de chaux dissoute. Lorsque la coloration du liquide ne masque pas la couleur rouge de la phtaléine, ce qu'il est toujours facile de réaliser par une dilution convenable, le procédé est très exact.

Je prépare deux solutions, l'une de lactate de chaux pur contenant en 400 c.c. 2 gr. 002 d'acide lactique et l'autre, de carbonate de potasse à 3,6 0/0 :

50 c.c. de la sol. de lactate sont précipités par.	14,1 de la sol. CO^3K^2
25 — — — + 25 c.c. eau dist...	7,0 —
10 — — — + 40 — ...	2,9 —

Lactose. — J'ai employé du lactose obtenu pur par des cristallisations successives dans l'eau, il possédait un pouvoir rotatoire de $55^{\circ},4$ à 20° .

Des ballons contenant chacun :

Eau.....	200
Peptone.....	2
Lactose.....	8,86
Carbonate de chaux.....	12

sont ensemencés et mis à 35° . Au bout de 24 heures ils sont le siège d'un dégagement actif d'acide carbonique; en prélevant de temps à autre un ballon, on obtient :

Durée de la ferment.	Sucre cons	Ac. Fixe.	Ac. Vol.
—	—	—	—
3 jours	4,66	4,4	0,10
5 jours	6,52	6,2	0,14
12 jours	8,86	8,5	0,16

D'un bout à l'autre de la fermentation l'acide volatil a été de l'acide formique.

Le contenu de trois ballons pris au 12^e jour a été mélangé : l'acide fixe extrait à l'éther. On a obtenu :

Sucre consommé.....	26,58
Acide fixe.....	26,0
Acide volatil (ac. form.).....	0,5

L'acide après l'évaporation de l'éther a été transformé en sel de zinc; celui-ci purifié par 2 cristallisations a donné :

Perte d'eau à 160° 0/0 de sel.....	18,3
ZnO 0/0 de sel anhydre.....	33,1
Rotation.....	Inactif.

L'acide est de l'acide *inactif*.

Il est à remarquer que l'acide volatil de la culture, qui était de l'acide acétique lorsque le ferment se développait dans la peptone seule, devient de l'acide formique lorsqu'il est produit aux dépens du sucre ¹ :

L'acide lactique obtenu représente 97,7 0/0 du sucre détruit; il est bien produit uniquement aux dépens du sucre et non de la

1. Dans toutes les expériences rapportées ultérieurement, l'acide volatil sera, sauf indication contraire, exprimé en acide formique.

peptone ou des impuretés que celle-ci peut apporter avec elle, car l'augmentation de la teneur en peptone n'augmente pas la quantité d'acide fixe, tandis que l'addition d'un certain poids de sucre détermine la formation d'un poids exactement correspondant d'acide lactique.

Trois ballons ont reçu chacun 200 c. c. d'une solution de lactose à 5,01 0/0 du carbonate de chaux et en outre

Le ballon	I.....	2 grammes de peptone.		
—	II.....	4	—	—
—	III.....	10	—	—

Après 45 jours de séjour à l'étuve, les ballons ont été repris. Le sucre avait disparu de tous. Les quantités d'acide formé étaient :

	Ac. Fixe.	Ac. Vol.
I.....	9,8	0,18
II ..	9,5	0,20
III.....	9,5	0,25

L'acide volatil est de l'acide formique dans les trois ballons.

Trois ballons ont reçu chacun du carbonate de chaux, 200 c. c. d'une solution contenant 1 0/0 de peptone et en plus :

Dans le ballon	I.....	7,6 de lactose.	
—	II.....	3,8	—
—	III.....	1,6	—

Les ballonsensemencés et mis à l'étuve ont donné au bout de 45 jours, le sucre ayant entièrement disparu de tous :

	Ac. Fixe.	Ac. Vol.
I.....	7,4	0,14
II ..	3,6	0,11
III.....	1,5	0,09

Si, au lieu de diminuer la proportion de sucre comme dans l'expérience précédente on diminue la proportion de peptone, la culture devient traînante, la proportion d'acide volatil produit augmente et la nature de l'acide lactique est modifiée.

Trois ballons ont reçu chacun 400 c.c. d'une solution de lactose contenant 5,12 de sucre, du carbonate de chaux et les quantités de peptone suivantes :

Ballon	I.....	1,0
—	II.....	0,5
—	III.....	0,2

Après deux mois de séjour à l'étuve, ils ont donné :

	Sucre restant.	Ac. Fi.	Ac. vol.	Ac. vol. 0/0 d'ac. fixe.
I.....	0	5,0	0,1	2,0
II.....	0	4,2	1,45	10,7
III.....	4,2	0,5	0,07	14,0

L'acide du ballon I est de l'acide *Inactif*.

Le sel de zinc obtenu avec l'acide du ballon II a donné :

Perte d'eau à 160°.....	16,7
ZnO 0/0 de sel anhydre.....	33,1

1 gramme de sel dissous dans l'eau de façon à faire 25 c. c. a donné une rotation gauche de $-10'$ au tube de 2 centimètres.

Le sel est un mélange de *lactate inactif* et de *sarcosactate*.

Ainsi donc, en diminuant la proportion de peptone, nous déterminons la production d'un acide actif, sans que le ferment perde pour cela ses qualités de ferment lactique vrai, puisque l'acide obtenu représente 82 0/0 du sucre détruit.

Pour bien mettre ces faits en évidence, il y aurait lieu de reprendre l'expérience avec des doses comprises entre celle du ballon II et celle du ballon III, je ne l'ai pas fait parce que j'ai retrouvé, en étudiant les autres sucres, toujours le même phénomène très nettement.

Saccharose. — Le saccharose mis à fermenter en présence de 1 0/0 de peptone se comporte comme le lactose.

10,1 grammes ont donné après 15 jours :

Sucre détruit.....	10,1
Acide lactique.....	9,8
Acide vol.....	0,12

L'acide est *inactif*.

Un essai de fermentation en présence de 5 0/0 de saccharose et de 0,8 0/0 de peptone, ne m'a pas donné d'acide lactique en quantité appréciable.

Maltose. — J'ai employé du maltose industriel purifié par des cristallisations dans l'alcool.

Son pouvoir rotatoire était $\alpha_D = +140,0$.

Quatre ballons ont reçu chacun 200 c. c. d'une solution sucrée contenant 11^{gr},40 de maltose, du carbonate de chaux et en outre :

Ballon	I.....	2 gr. de peptone.
—	II.....	1 —
—	III.....	0,8 —
—	IV.....	0,6 —

Dans les ballons I et II la fermentation, très rapide au début, a paru terminée vers le dixième jour. Les 4 ballons repris au bout de 1 mois ont donné :

	Sucre cons.	Ac. Fi.	Ac. vol.
I.....	11,4	10,8	0,14
II.....	11,4	11,6	0,16
III.....	9,6	9,2	
IV.....	3,4	3,0	0,11

Le contenu des deux ballons I et II mélangé a donné de l'acide *inactif*.
Le ballon IV a fourni un sel de Zn donnant :

Perte d'eau à 160.....	12,8
ZnO 0/0 de sel anhydre.....	32,9
0,936 dissous en 25 c. c. d'eau. Rot. 20 c. c. —	0,63
Pouvoir rot. α_D	— 8°,5

L'acide est de l'acide *droit*.

Nous voyons très nettement, dans le cas présent, que le ferment qui donne en présence d'une certaine dose de peptone de l'acide inactif, donne avec une dose à peine plus faible de l'acide droit : nous devons remarquer aussi que le poids d'acide obtenu représente 88 0/0 du poids du sucre consommé : il ne saurait être question ici de la formation d'un racémate dédoublé par une action ultérieure du ferment. Le corps actif est formé directement aux dépens du maltose.

Nous allons retrouver le même fait d'une façon constante en étudiant les sucres à six atomes de carbone.

Glucose. — J'ai employé un glucose pur du commerce.

10^{gr}, 0 de glucose ont donné au bout de 1 mois :

	Gluc. cons.	Ac. lact.	Ac. vol.	Rot. sel. Zn
En prés. 1 0/0 pept.	10,0	9,7	0,13	Inactif.
0,5	10,0	9,8	0,15	Inactif.
0,4	7,5	7,1		
0,3	2,9	2,4	0,1	— 8°,8

Sucre interverti. — 11^{gr},2 de sucre interverti ont donné après 14 jours, en présence de 1 0/0 de peptone :

Acide lactique.....	10,8
Acide volatil.....	0,48

L'acide est *inactif*.

Galactose. — J'ai employé un galactose pur du commerce. Le pouvoir rotatoire évalué en mesurant la rotation sur une solu-

tion à 5 0/0, le sucre étant dosé par réduction, est de 82°,4 à 17°. 9^{gr},2 de galactose ont donné au bout de cinq semaines :

	Suc. cons.	Ac. lact.	Ac. vol.	Rot. sel. zinc.
	—	—	—	—
En prés. 10/0 pept.	9,2	8,9	0,14	Inactif.
0,3	6,9	6,7	0,14	
0,4	4,9	4,6	0,12	— 8°,9

Mannose. — 100 grammes de poudre de corrozo délayés dans 500 c. c. d'eau additionnée de 16 c. c. d'acide sulfurique à 66° B, ont été maintenus à l'autoclave à 120° pendant 1 heure, la masse étant refroidie et le liquide filtré, j'ai fait subir au résidu deux fois encore le même traitement, l'ensemble des liquides acides saturé par le carbonate de chaux, décoloré par le noir animal est limpide, à peu près incolore, il contient une quantité de sucre qui, évaluée comme mannose, représente 46^{gr},5, avec un pouvoir rotatoire de + 12°,8. Le sucre est donc du mannose pur.

8^{gr},96 de mannose ont donné au bout de un mois :

	Suc. cons.	Ac. lact.	Ac. vol.	R. sel. Zn.
	—	—	—	—
En prés. 1 0/0 pept.	8,96	8,5	0,21	Inactif.
0,5	4,4	4,06	0,12	— 9°

Ainsi lorsque, l'aliment azoté étant abondant, la culture est facile, le ferment donne avec tous les sucres étudiés indistinctement de l'acide inactif; si l'azote devient rare, la culture est pénible et nous aboutissons dans tous les cas à de l'acide droit : Il apparaît bien clairement que ce n'est pas de la constitution stéréochimique du sucre que dépend la nature de l'acide, mais bien des conditions de vie qui sont faites au ferment; pour compléter cette notion, il y avait lieu d'examiner si, quand on gêne la culture de différentes façons, en changeant la nature de l'azote alimentaire, en élevant la température, en ajoutant des antiseptiques, on obtiendrait des résultats analogues à ceux que donne la diminution de la dose de peptone. J'ai vainement essayé de substituer à la peptone les sels ammoniacaux, tartrate, succinate, nitrate ou l'asparagine, le ferment n'a pas poussé.

J'ai dit que la température optima pour le ferment était vers 35°, à 40° le développement se fait encore, mais très péniblement; dans ces conditions, 12^{gr},5 de lactose dissous dans l'eau peptonisée à 1 0/0 ont donné après six semaines :

Sucre consommé.....	6,6
Acide lactique.....	5,6
Acide volatil.....	0,4

Le sel de zinc de l'acide a donné :

Perte d'eau à 160°.....	15,4
Zn O 0/0 de sel anhydre.....	33,1
1,236 diss. en 25 c. c. eau. Rot. 225.....	— 0°,4

L'acide obtenu est un mélange de Droit et d'Inactif.

Un certain nombre de ballons contenant du carbonate de chaux et 200 c. c. d'une solution à 1 0/0 de peptone et 4^{gr},02 0/0 de lactose, ont reçu des doses croissantes d'acide phénique, ils ont été ensemencés et mis à 35° : au bout de un mois et demi ils ont donné :

	Suc. cons.	Ac. lact.	R. sel. Zn.
	—	—	—
En prés. de 2 gr. p. lit. de phén.	0	0	
1 —	5,95	5,1	— 8°,4.
0 —	8,04	7,87	Inactif.

II

FERMENTATION DES ALCOOLS POLYATOMIQUES

Les sucres sont pour notre ferment des aliments de digestion facile ; si les conditions de la culture sont bonnes par ailleurs, ils sont rapidement consommés ; il n'en est pas de même des alcools polyatomiques, ceux du moins que j'ai étudiés, la mannite, la glycérine, la dulcite sont d'une digestion extrêmement pénible. Dans l'eau peptonisée à 1 0/0, le ferment se développe bien envahissant la totalité du liquide qui devient uniformément trouble, dans le même milieu additionné de 5 0/0 de mannite la culture se fait lentement ; elle est en grumeaux qui restent déposés au fond du ballon, si on les agite ils se répandent dans le liquide sans produire de trouble véritable. Dans les solutions peptonisées à 1 0/0, la destruction des alcools polyatomiques est lente, elle ne donne jamais lieu à un dégagement visible d'acide carbonique, on ne gagne rien à augmenter la dose de peptone qui a pu être portée à 2 0/0 et 5 0/0 sans que l'action devienne

plus rapide. La proportion d'acide volatil obtenu est ici bien plus considérable qu'avec les sucres et il se forme en outre une quantité notable d'alcool éthylique.

Mannite. — Des ballons contenant chacun 5 grammes de mannite dissous dans 100 c. c. d'eau peptonisée à 1 0/0 ont donné :

	Act. lact.	Ac. vol.	Alcool
Après 12 jours.....	1,45	0,2	0,6
Après 1 mois.....	2, 0	0,3	0,8
Après 3 mois.....	4, 5	0,6	0,4

L'acide obtenu était toujours de l'acide Droit.

On obtient une destruction un peu plus rapide de la mannite en remplaçant l'eau peptonisée par le jus d'oignons additionné de 0,5 0/0 de peptone. 100 grammes de mannite, mis à fermenter dans ces conditions, ont donné après deux mois et demi :

Alcool éthylique.....	9,7
Acide acétique.....	5,0
Acide formique.....	4,9
Acide lactique.....	62,1

L'acide était de l'acide Droit.

Dulcite. — 30 grammes de dulcite mis à fermenter à 35°, dans 600 c. c. d'eau peptonisée à 1 0/0, ont donné au bout de un mois :

Alcool éthylique.....	2,4
Acide formique.....	1,74
Acide lactique.....	7,83

Acide Droit.

Glycérine. — 25 grammes de glycérine ont été mis en fermentation dans 500 c. c. d'eau peptonnée à 1 0/0 : le ballon a été repris au bout de deux mois ; dans 50 c. c. de liquide, j'ai dosé la glycérine non attaquée, dans le reste j'ai dosé les acides ; j'ai trouvé :

Glycérine consommée.....	5,6
Acide lactique.....	3,2
Acide formique.....	0,8

Acide Droit.

III

ACTION SUR QUELQUES ACIDES ORGANIQUES

Le ferment que nous venons d'étudier est sans action sur le lactate de chaux. Des cultures en eau peptonisée à 5 0/0 de lactose, abandonnées à l'étude pendant plus d'un an, ont donné à l'analyse la même quantité d'acide fixe que les cultures semblables analysées 15 jours après l'ensemencement. Deux essais faits, l'un dans du jus d'oignon additionné de 1/2 0/0 de peptone et de 5 0/0 de lactate de chaux pur, l'autre dans une solution de lactate de chaux pur à 2 0/0 additionnée de peptone aux doses de 1 : 0,5 : 0,3 0/0, laissés trois mois à l'étude, ne m'ont permis de constater aucune attaque du lactate de chaux; pourtant, dans tous ces liquides, le ferment s'était développé.

Je n'ai pu constater l'attaque ni du succinate de chaux, ni des tartrates de chaux de magnésie ou d'ammoniaque : par contre, le malate de chaux est attaqué avec facilité.

Ensemencé dans une solution de peptone à 2 0/0 additionnée de 5 0/0 de malate neutre de chaux, le ferment se développe rapidement et, au bout de quelques jours, le liquide est le siège d'un dégagement gazeux très actif.

100 grammes de malate de chaux, correspondant à 64^{gr},4 d'acide malique, ont donné après 1 mois de culture, le dégagement gazeux étant arrêté depuis plusieurs jours déjà :

Alcool éthylique	5,28
Acide acétique.....	10,3
Acide formique	16,2
Acide carbonique restant à l'état de carbonate de chaux.....	8,61

Tout l'acide malique a disparu et il ne reste dans la culture ni acide lactique, ni aucun autre acide fixé, car la chaux en solution correspond à celle qui sature les acides acétique et formique, et d'autre part le résidu insoluble qui reste au fond du ballon dissous dans l'acide acétique donne de l'acétate de chaux sans mélange.

CONCLUSIONS

Il résulte de l'étude que nous venons de faire :

1° Qu'un ferment lactique peut, tout en conservant ses qualités de ferment lactique vrai, donner naissance à l'acide actif, celui-ci représentant plus de 80 0/0 du sucre détruit;

2° Que la nature de l'acide n'est sous la dépendance directe ni de la fonction chimique, ni de la constitution de l'hydrate de carbone dont il dérive ; elle dépend d'un ensemble complexe de facteurs. J'ai montré qu'un certain nombre d'influences qui aboutissent à un ralentissement de la culture, la diminution de l'azote alimentaire, une température élevée, l'addition d'antisep-tiques, la résistance plus grande de l'aliment hydrocarboné déterminaient toutes la production du même acide droit ; peut-être en est-il d'autres qui nous conduiraient à l'acide gauche, dans des questions aussi complexes il faut accumuler patiemment les faits et avant tout se garder des généralisations hâtives.

Vu, le président de la thèse,

CHARLES RICHET.

Vu le doyen,

BROUARDEL

Vu et permis d'imprimer,

Le vice-recteur de l'Académie de Paris,

GRÉARD.

